

## 前胡香豆素组分对心脏肥厚大鼠心脏血流动力学、 心肌顺应性及胶原含量的影响

饶曼人\*, 孙 兰, 张晓文

(南京医科大学心血管药理学研究室, 江苏 南京 210029)

**摘要:**目的 从中草药中寻找更有效的既能降压又能改善左心室重构及功能的药物。方法 用两肾一夹方法制作肾血管性高血压左心室肥厚(LVH)大鼠模型。前胡香豆素组分预防组和逆转组分别从术后第6周和第9周开始给药,  $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , ig, 连续9周。制备大鼠离体工作心脏, 观察心脏收缩及舒张性能、血流动力学和心肌顺应性变化, 并测定心肌羟脯氨酸含量。结果 与LVH对照组相比, 前胡香豆素组分预防组和逆转组大鼠  $-dp/dt_{\max}$  分别增加19.4%和15.3%; LVEDP 分别降低32.5%和25.6%; 两组左室压力-容积曲线均向右下移位; 左室心肌羟脯氨酸含量分别降低22.6%和23.4%。结论 前胡香豆素组分可改善LVH大鼠心脏舒张功能, 提高心肌顺应性, 降低心肌胶原含量。

**关键词:** 前胡香豆素; 高血压, 肾血管性; 心脏肥厚; 血流动力学; 羟脯氨酸; 心肌顺应性

中图分类号: R972.4

文献标识码: A

文章编号: 1000-3002(2002)04-0265-05

前胡香豆素(*Praeruptorum coumarin*)是从中药白花前胡(*Peucedanum praeruptorum* Dunn)中提取的有效成分, 为含有甲、乙、丙、丁素4种成分的混合物。本室曾研究表明, 前胡丙素具有抗心肌缺血再灌损伤、降低血压、预防及逆转左心室肥厚、阻滞外钙内流、使心肌及血管平滑肌细胞内钙浓度降低等作用<sup>[1~5]</sup>。前胡甲素亦具有明显的钙拮抗作用和促进钾通道开放、增加钾电流作用<sup>[6]</sup>。由于单体的含量

不高, 提取成本贵, 本研究拟观察白花前胡4种香豆素混合体的疗效, 为今后研制二类新药做探索性研究。本文用肾血管性高血压左心室肥厚大鼠模型, 探讨前胡香豆素组分在预防及逆转左室肥厚的同时对血流动力学、心肌顺应性和胶原含量等的影响。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 药品及动物

前胡香豆素组分由中国药科大学植物化学教研室提供, 为浅黄色半固体, 有结晶析出, 经薄层层析检测含白花前胡甲、乙、丙、丁4种香豆素成分。4种成分的含量比例为2:0.5:1:0.5, 前胡丙素和甲素含量较高, 是主要药理活性成分。前胡香豆素组分不溶于水。使用时以聚乙二醇400配成2%溶液, 避光保存。Sprague-Dawley(SD)大鼠, ♂♀兼用, 体重(209 ± 23)g ( $\bar{x} \pm s$ ), 由南京医科大学实验动物中心提供。

#### 1.2 肾血管性高血压左室肥厚模型及分组

将SD大鼠以3%戊巴比妥钠  $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  ip 麻醉, 打开腹腔, 游离左侧肾动脉, 夹以直径0.3 mm的银夹, 对侧肾动脉不触及(两肾一夹 Goldblott 模型)<sup>[7]</sup>, 假手术组除不触及左侧肾动脉, 其余程序同上。根据文献<sup>[7,8]</sup>, 大鼠于手术后第8周即已形成明显的左室肥厚, 故分组为前胡香豆素组分预防组和逆转组: 分别从术后第6周和第9周开始给药,  $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , ig, 连续9周; 左室肥厚预防和逆转对照组: 分别从术后第6周和第9周开始给予等容量溶剂聚乙二醇400, ig, 连续9周; 假手术组: 给药时间及剂量同对照组。

#### 1.3 大鼠离体工作心脏制备及指标测定

击昏大鼠, 开胸制备离体工作心脏<sup>[9]</sup>。左室充盈压20 kPa, 主动脉静水压9.3 kPa。剪开肺动脉圆锥, 经主动脉插管, 用RDB-IV型恒速蠕动泵(张家港仪器仪表总厂)进行灌流, 灌注液为改良的 Krebs-Henseleit(KH)溶液( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ : NaCl 118, KCl 4.7,

收稿日期: 2001-10-15 接受日期: 2002-02-04

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39570819)

作者简介: 饶曼人(1930-), 女, 福建建阳人, 教授, 博士生导师, 心血管药理研究室主任, 主要从事心血管药理研究。

\* 联系作者 Tel: (025)6663597, Fax: (025)6580960, E-mail: Raomanren@263.net

MgSO<sub>4</sub> 1.2, CaCl<sub>2</sub> 2.5, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, Na<sub>2</sub>EDTA 0.5, 葡萄糖 11.5)<sup>[10]</sup>。液体中持续通入 95% O<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub> 混合气体, pH 7.35 ~ 7.45, 温度 35.5 ~ 36.5℃。沿左肺静脉剪开, 插管。游离心脏并固定在离体工作心脏灌流装置上。5 min 后改从肺静脉插管灌流, 使灌流液从左肺静脉到左心房, 再进入左心室。将聚乙烯管从心尖部插入左心室, 另端通过压力换能器连于 SJ-42 型四道生理记录仪(上海医用电子仪器厂)上。同步记录左室内压(left ventricular systolic pressure, LVSP), 左室内压最大变化速率(± dp/dt<sub>max</sub>), 左室舒张末期压(left ventricular end diastolic pressure, LVEDP), 推算等容舒张期心室内压下降的时间常数(T)值; 定时收集 1 min 主动脉流出液(aorta flow, AF)和冠脉流出液(coronary flow, CF), 将两者相加得到心输出量(cardiac output, CO)。

#### 1.4 左室顺应性测定方法<sup>[11]</sup>

大鼠断颈处死, 开胸制备 Langendorff 心脏, 灌流液为改良 KH 液, 液体通过恒速蠕动泵灌流, 灌速 8 mL·min<sup>-1</sup>, 灌流液中持续通入 95% O<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub> 混合气体, pH 7.4, 温度 37℃。记录用聚乙烯管由心尖部引入左心室, 通过换能器接四道生理记录仪。稳定 10 min 后, 在左心耳缝一荷包, 剪开左心耳, 将自制顶端有乳胶球囊的聚乙烯导管, 经左心房插入左心室, 37℃ KH 液经导管注入乳胶球囊。最初量为 0.06 mL, 并以此量递增, 共 7 次, 终容积为 0.42 mL。同步记录不同球囊容积时 LVSP 以及 ± dp/dt<sub>max</sub>。结果以 LVEDP 为纵坐标, 以左室球囊容积为

横坐标, 描绘左室压力-容积关系曲线, 反映心肌舒张期顺应性; 以 LVDP(= LVSP - LVEDP)为纵坐标, 以左室球囊容积为横坐标, 描绘 LVDP-容积曲线, 反映心肌收缩功能。测定后取心脏, 剪去心房及血管组织, 由心室沿室间隔剪开, 分别称重(右室, 左室 + 室间隔), 测定心肌胶原含量。

#### 1.5 心肌组织胶原含量测定

通过测定胶原中羟脯氨酸含量推算胶原含量<sup>[10,12]</sup>。取心室肌 100 mg, 用滤纸吸干水分后分成大小相等的两块, 分析天平精确称重。一块于 110℃ 烘箱中烘至恒重, 称重, 计算干湿重比。另一块加入生理盐水, 将组织剪碎。5% 三氯醋酸提取 2 次。将提取液混合, 加入 12 mol·L<sup>-1</sup> HCl 终浓度为 5.7 mol·L<sup>-1</sup>, 于具塞试管内, 放置于 110℃ 烘箱中水解 24 h。取水解液加入氧化剂(氯氨 T 溶液), 放置 25 min。加入 Enrich 试剂, 室温下静置 30 min, 用 721 型分光光度计 560 nm 处测定样本吸光度值。将羟脯氨酸标准品配成标准液, 以蒸馏水为空白对照, 做标准曲线, 计算羟脯氨酸含量。

#### 1.6 统计学处理

所有数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间及组内比较用 *t* 检验。

## 2 结果

### 2.1 前胡香豆素组分对肾血管性高血压大鼠离体工作心脏心功能的影响

由表1和表2结果可见, 与左室肥厚组相比, 前胡

**Tab 1. Preventive effects of praeruptorum coumarin (PC) on cardiac function of isolated working heart of left ventricular hypertrophy (LVH) induced by renovascular hypertension in rats**

Index	Sham operation	LVH	PC-P
HR/min <sup>-1</sup>	202 ± 33	186 ± 21	188 ± 9
(+ dp/dt <sub>max</sub> )/kPa·s <sup>-1</sup>	491 ± 56	477 ± 36*	480 ± 38
(- dp/dt <sub>max</sub> )/kPa·s <sup>-1</sup>	384 ± 7	222 ± 24**	265 ± 26***##
LVSP/kPa	15.7 ± 1.7	12.7 ± 1.5**	13.3 ± 1.5**
LVEDP/kPa	0.44 ± 0.10	1.26 ± 0.23**	0.85 ± 0.10***##
T/ms	6.8 ± 2.0	22.2 ± 2.0**	15.8 ± 1.7***##
(AF/HWW)/mL·min <sup>-1</sup> ·g <sup>-1</sup>	24.0 ± 1.5	16.6 ± 1.5**	17.9 ± 3.5**
(CF/HWW)/mL·min <sup>-1</sup> ·g <sup>-1</sup>	7.4 ± 0.6	5.0 ± 0.3*	6.9 ± 0.8##
(CO/HWW)/mL·min <sup>-1</sup> ·g <sup>-1</sup>	31.4 ± 2.0	20.3 ± 3.1**	24.3 ± 1.9***##

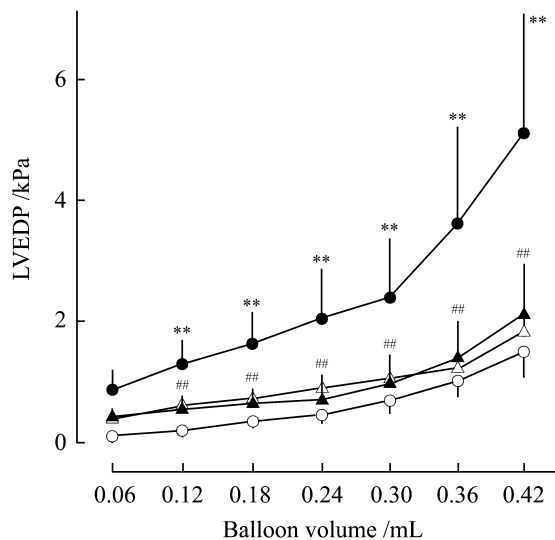
Renovascular hypertension was induced by 2K1C method; PC-P: PC preventive group, PC 30 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> was given ig for 9 weeks from the 6th week after 2K1C operation; HR: heart rate; ± dp/dt<sub>max</sub>: the maximal rate of rise and decline of ventricular pressure, respectively; LVSP: left ventricular systolic pressure; LVEDP: left ventricular end diastolic pressure; T: time constant of decreasing in ventricular pressure in isovolumetric relaxation phase; AF: aorta flow; CF: coronary flow; CO: cardiac output; HWW: heart wet weight.  $\bar{x} \pm s, n = 8$ . \* *P* < 0.05, \*\* *P* < 0.01, compared with sham operation group; # *P* < 0.05, ## *P* < 0.01, compared with LVH group.

**Tab 2. Reverse effects of praeruptorum coumarin on cardiac function of isolated working heart of left ventricular hypertrophy induced by renovascular hypertension in rats**

Index	Sham operation	LVH	PC-R
HR/min <sup>-1</sup>	208 ± 25	182 ± 9*	184 ± 10
+ dp/dt <sub>max</sub> /kPa·s <sup>-1</sup>	484 ± 44	473 ± 31	478 ± 41
- dp/dt <sub>max</sub> /kPa·s <sup>-1</sup>	387 ± 21	228 ± 31**	263 ± 27***##
LVSP/kPa	15.5 ± 1.6	13.2 ± 0.3*	13.0 ± 1.6*
LVEDP/kPa	0.50 ± 0.11	1.33 ± 0.23**	0.99 ± 0.18***##
T/ms	7.2 ± 2.1	22.4 ± 3.5**	17.1 ± 3.2**##
(AF/HWW)/mL·min <sup>-1</sup> ·g <sup>-1</sup>	20.9 ± 1.1	14.6 ± 2.1**	16.6 ± 4.2*
(CF/HWW)/mL·min <sup>-1</sup> ·g <sup>-1</sup>	7.5 ± 0.7	5.4 ± 0.3**	6.0 ± 0.7**#
(CO/HWW)/mL·min <sup>-1</sup> ·g <sup>-1</sup>	27.9 ± 1.7	19.9 ± 1.6**	22.8 ± 2.0***##

PC-R: PC reverse group, PC 30 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> was given ig for 9 weeks from the 9th week after 2K1C operation.  $\bar{x} \pm s, n = 8$ . \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , compared with sham operation group; #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$ , compared with LVH group.

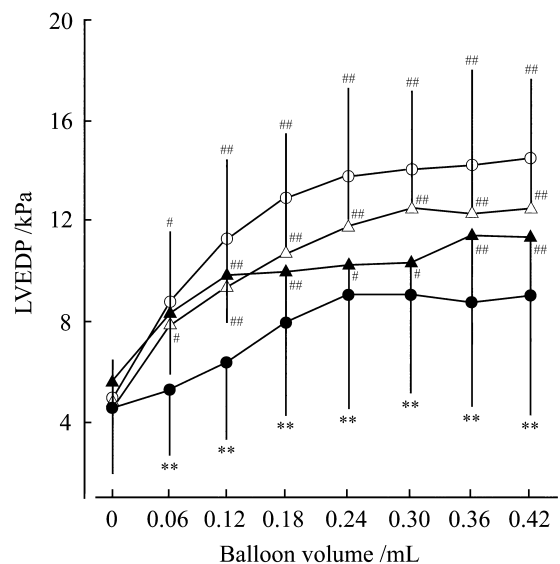
香豆素组分预防组和逆转组大鼠 - dp/dt<sub>max</sub> 分别升高了 19.4% 和 15.3%, LVEDP 分别降低了 32.5% 和 25.6%, T 值分别降低 28.8% 和 23.7%。CF/HWW 分别增加 38.0% 和 11.1%, CO/HWW 分别增加了 19.7% 和 14.6%。结果表明, 前胡香豆素组分预防及治疗给药均可改善左室肥厚大鼠心脏的舒张功能, 对收缩功能改善不明显。均可增加心脏冠脉流量和心输出量, 且预防给药的作用更好一些。



**Fig 1. Effects of praeruptorum coumarin on diastolic myocardial compliance (pressure-volume curve) of isolated working heart of left ventricular hypertrophy induced by renovascular hypertension in rats.** (△)PC-P group, (▲) PC-R group.  $\bar{x} \pm s, n = 8$ . \*\*  $P < 0.01$ , compared with sham operation group(○); ##  $P < 0.01$ , compared with LVH group(●).

**2.2 前胡香豆素组分对肾血管性高血压大鼠左室顺应性的影响**

随着左室球囊容积的递增, 与左室肥厚组相比, 前胡香豆素组分大鼠左室压力-容积曲线向右下移位。当球囊容积增加到 0.42 mL 时, 预防组 LVEDP 降低 64.3%, 逆转组降低 58.8% (图 1)。两组均可见左室 LVDP-容积曲线上拾左移(图 2)。结果表明, 前胡香豆素组分预防及治疗给药均可改善左室肥厚心肌顺应性及左室收缩功能。



**Fig 2. Effects of praeruptorum coumarin on left ventricular developed pressure in isolated working heart of left ventricular hypertrophy induced by renovascular hypertension in rats.** LVDP: LVSP - LVEDP. (△)PC-P group, (▲) PC-R group.  $\bar{x} \pm s, n = 8$ . \*\*  $P < 0.01$ , compared with sham operation group(○); #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$ , compared with LVH group(●).

### 2.3 前胡香豆素组分对心肌胶原含量的影响

由表3结果可见,前胡香豆素组分预防组大鼠左室心肌羟脯氨酸含量为 $(4.59 \pm 0.46) \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 干重,较左室肥厚组降低22.6%,逆转组为 $(4.64 \pm 0.41) \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 干重,较左室肥厚对照组降低23.4%。结果表明,前胡香豆素组分预防及治疗给药均能降低左室心肌中羟脯氨酸含量,且两组作用接近。对右室心肌羟脯氨酸含量无影响。

**Tab 3. Influence of praeruptorum coumarin on hydroxyproline content of myocardium in renovascular hypertensive rats**

Group	Hydroxyproline content/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ dry weight	
	Left ventricle	Right ventricle
Sham operation	$4.01 \pm 0.47$	$6.80 \pm 0.66$
LVH	$5.93 \pm 0.28^{**}$	$6.89 \pm 1.36$
PC-P	$4.59 \pm 0.46^{* \# \#}$	$7.09 \pm 0.78$
PC-R	$4.64 \pm 0.41^{* \# \#}$	$7.51 \pm 0.59$

See legend of Tab 1 and 2 for drug treatments.  $^{*}P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$ , compared with sham operation group;  $^{\# \#}P < 0.01$ , compared with LVH group.

### 3 讨论

本实验结果表明,白花前胡香豆素组分(为白花前胡甲、乙、丙、丁4种香豆素成分的混合物)在未出现心肌肥厚前预防给药及在已发生肥厚后治疗给药,均可改善大鼠肥厚心脏的舒张功能及心肌供血。

高血压伴左室肥厚时由于长期血压升高而使心功能明显受损,表现为冠脉流量下降,心脏舒缩功能减退,特别是左室的顺应性明显损害,说明高血压左室肥厚时首先损害的是舒张功能。白花前胡香豆素组分预防组系大鼠手术后第6周给药,此时血压才升高,肥厚尚未形成。逆转组系大鼠手术后第9周给药,本室研究及文献资料均证明在第9周确实已形成肥厚,此时给药为逆转左室肥厚的作用。二组均于给药后第9周与左室肥厚对照组比较,两个给药组均使 $-dp/dt_{\max}$ 改善,LVEDP下降,T值缩短,特别是左心室顺应性改善。左室收缩期压力虽无改变,但LVDP增加,因为药物使LVEDP下降,表现出来是收缩期发展压升高,心脏收缩功能也得到改善。同时二给药组使左室肥厚大鼠的心脏供血增加,表

现在二组冠脉流量增加,也使整个心输出量升高,说明心脏泵血得以改善。

间质胶原代谢在心脏重构中具有重要作用,高血压心肌肥厚时除心肌细胞肥大外,成纤维细胞过度增殖而且产生胶原的能力增强,心脏间质胶原累积,影响心脏舒缩功能及心肌细胞信号转导,参与心肌肥厚形成<sup>[13]</sup>。本文以测定组织中羟脯氨酸含量推算出组织胶原含量,见左室肥厚同时伴有左室胶原含量增加。白花前胡香豆素组分无论预防组或逆转组在降压,预防与逆转左室肥厚的同时,也降低左室胶原含量,这对高血压心肌重构及其并发症的防治非常有益。

本室曾对白花前胡香豆素所含主要成分进行研究,表明前胡丙素具有抑制钙内流,保护心肌细胞膜,防止心肌舒缩功能下降,以及扩张血管、增加冠脉流量等作用<sup>[1-5]</sup>。前胡甲素亦具有明显的钙拮抗作用和促进钾通道开放、增加钾电流作用<sup>[6]</sup>。本研究表明,白花前胡香豆素无论预防或治疗给药,与单用前胡丙素疗效相似但较弱,其作用机理可能与该混合物的钙拮抗、促进钾通道开放以及增加冠脉流量、防止肥厚形成等综合作用有关。本研究各项指标证明预防组比逆转组疗效更高一些,因此用药防患于未然更重要。

### 4 参考文献:

- [1] Rao MR, Shen XH, Zou X. Effects of praeruptorin C and E isolated from 'Qian-Hu' on swine coronary artery and guinea-pig atria[J]. *Eur J Pharmacol*, 1988, **155**(3): 293-296.
- [2] Yang JR, Li QP, Rao MR. Effects of praeruptorin C on hemodynamics of isolated rat heart with ischemia-reperfusion damage[J]. *Chin J Pharmacol Toxicol* (中国药理学与毒理学杂志), 1995, **9**(4):271-273.
- [3] Wang HX, Rao MR, Wang JX, Yang SJ. Effects of praeruptorin C on  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  uptake and cytosolic-free  $\text{Ca}^{2+}$  in cultured myocardial cells of neonatal rat[J]. *Chin J Pharmacol Toxicol* (中国药理学与毒理学杂志), 1995, **9**(3): 184-188.
- [4] Wu X, Rao MR. Effects of praeruptorin C on isolated guinea pig atrium and myocardial compliance in patients[J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 1990, **11**(3):235-238.
- [5] Chen ZX, Huang BS, She QL, Zeng GF. The chemical constituents of Bai-Hua-Qian-Hu. The root of *Peucedanum*

- praeruptorum*[J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 1979, **142**():486-489.
- [6] Wang LJ, Li JM, Chang TH, Hao LY, Wang YP, Zhang KY. Effect of *dl*-praeruptorin A on delayed outward potassium current in single ventricular cell of guinea pig[J]. *Chin J Pharmacol Toxicol* (中国药理学与毒理学杂志), 1995, **9**(3):192-195.
- [7] Gryniewicz G, Poenie M, Tsien RY. A new generation of  $Ca^{2+}$  indicators with greatly improved fluorescence properties [J]. *J Biol Chem*, 1985, **260**(6):3340-3350.
- [8] Ding XL, Li YX. Development and reversal of cardiac hypertrophy in renovascular hypertensive rats[J]. *Bull Hunan Med Univ* (湖南医科大学学报), 1989, **14**(3):209-211.
- [9] Guo ZG, Ma CT, Tang XL, Shen Y, Yang FC. Effects of fluorocarbon perfusion on isolated working guinea pig hearts [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 1986, **7**(3):243-247.
- [10] Eghbali M, Weber KT. Collagen and the myocardium: fibrillar structure, biosynthesis and degradation in relation to hypertrophy and its regression [J]. *Mol Cell Biochem*, 1990, **96**(1):1-14.
- [11] Xi T, Rao MR. Effects of *m*-nifedipine on left ventricular diastolic function and  $Ca^{2+}$  content of myocardial and cerebral mitochondria and artery tissues in left ventricular hypertrophied rats [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 1995, **16**(1):6-11.
- [12] Conrad CH, Brooks WW, Hayes JA, Sen S, Robiusion KG, Bing OH. Myocardial fibrosis and stiffness with hypertrophy and heart failure in the spontaneously hypertensive rat [J]. *Circulation*, 1995, **91**(1):161-170.
- [13] Pearlstein E, Gold LI, Garcia-Pardo A. Fibronectin: a review of its structure and biological activity [J]. *Mol Cell Biochem*, 1980, **29**(2):103-128.

## Effects of praeruptorum coumarin on heart hemodynamics, myocardial compliance and collagen content in heart hypertrophy rats

RAO Man-Ren, SUN Lan, ZHANG Xiao-Wen

(Department of Cardiovascular Pharmacology, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China)

**Abstract:** **AIM** To explore an excellent drug for therapy of cardiac hypertrophy from chinese traditional herb. **METHODS** Two-kidney-one-clip (2K1C) renovascular hypertensive model was used to establish left heart hypertrophy (LVH), praeruptorum coumarin (PC)  $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  was given ig for 9 weeks from the 6th week or 9th week after 2K1C operation for preventive group or reverse group respectively. The isolated Langendorff's heart was made to study the effect of PC on hemodynamics and myocardial compliance, and myocardial hydroxyproline content was studied. **RESULTS** The  $-dp/dt_{\max}$  in PC preventive and reversive groups increased 19.4% and 15.3% than that of LVH group, while LVEDP decreased 32.5% and 25.6%, respectively, the

P-V curves of the both groups were shifted to right and below. Hydroxyproline content of left ventricle in the both groups was lower than that of LVH group by 22.6% and 23.4%. **CONCLUSION** PC has the effect of preventing and reversing LVH and improving cardiac function and myocardial compliance in renovascular hypertensive LVH rats.

**Key words:** Praeruptorum coumarin; hypertension, renovascular; heart hypertrophy; hemodynamics; hydroxyproline; myocardial compliance

**Foundation item:** The project supported by National Natural Science Foundation of China(39570819)

(本文编辑 董立春)